ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ
САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

РОССИЙСКИЙ РЕСПУБЛИКАНСКИЙ
ИНФОРМАЦИОННО-АНАЛИТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР

МЕТОДЫ АНАЛИЗА ЧУЖЕРОДНЫХ ВЕЩЕСТВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

(Сборник нормативных материалов)

Москва, 1994 г.

gost.e-ecolog.ru

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ
САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

РОССИЙСКИЙ РЕСПУБЛИКАНСКИЙ
ИНФОРМАЦИОННО-АНАЛИТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР

МЕТОДЫ АНАЛИЗА ЧУЖЕРОДНЫХ ВЕЩЕСТВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

(Сборник нормативных материалов)

Москва, 1994 г.

ВВЕДЕНИЕ

Загрязнение пищевых продуктов токсичными чужеродными веществами является частью глобальной проблемы загрязнения окружающей среды, поэтому в настоящее время очень важным аспектом является определение микропримесей загрязняющих веществ в продуктах питания и снижение их содержания. В последние годы все больший приоритет приобретают исследования по определению таких токсикантов как различные микотоксины (афлатоксины, патулин, зеараленон, вомитоксин, трихотецены и др.), соли тяжелых металлов, нитриты, нитраты, N-нитрозамины и др.

Настоящий сборник включает в себя ранее изданные Методические указания по определению наиболее приоритетных загрязнителей пищевых продуктов, разработанные научно-исследовательскими институтами медицинского профиля и утвержденные Главным санитарно-эпидемиологическим управлением Минздрава СССР и ГКСЭН РФ.

В соответствии с Постановлением Госкомсанэпиднадзора Российской Федерации от 06.02.92 г. № 1 «О порядке действия на территории Российской Федерации нормативных актов бывшего Союза ССР в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения» на всей территории Российской Федерации действуют общесоюзные санитарные правила и нормативные акты впредь до принятия соответствующих нормативных актов Российской Федерации в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

Сборник предназначен для санитарно-гигиенических лабораторий центров Госсанэпиднадзора, НИИ и учреждений гигиенического профиля, кафедр гигиены питания медицинских институтов и институтов усовершенствования врачей, а также может быть использован лабораториями других организаций, занимающихся исследованиями пищевых продуктов.

Будем признательны за все критические замечания и пожелания, направленные на улучшение данного Сборника или составление аналогичных Сборников по другим разделам исследований пищевых продуктов.

Л. Г. Подунова

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ АНТИБИОТИКОВ В ПРОДУКТАХ ЖИВОТНОВОДСТВА*

Определение остаточных количеств антибиотиков проводят по «Методическим указаниям по определению остаточных количеств антибиотиков в продуктах животноводства» № 3049-84 от 29.06.84 г. При отсутствии возможностей использовать микробиологический метод можно использовать метод тонкослойной хроматографии.

Определение антибиотиков тетрациклинового ряда методом тонкослойной хроматографии (качественный анализ)

1. Оборудование

Стеклянный сосуд для тонкослойной хроматографии
Стеклянные пластины размером 9 × 18 см
Пресс для приготовления кашицы из тканей (диаметр пор 1 мм)
Механическая мешалка с тефлоновым пестиком
Пробирки со шлифом
Пипетки разные
Камера для обнаружения тетрациклина на пластинах
Пульверизатор
Сушильный шкаф до 120° С
Стекла часовые (диаметр 8—9 см).

---

* — Методические указания по определению остаточных количеств антибиотиков тетрациклинового ряда (хлортетрациклин, окситетрациклин, тетрациклин) в мясных продуктах микробиологическим и химическим методами, утв. МЗ СССР 07.04.75 г.

2. Реактивы

Н-бутанол перегнанный
Метанол перегнанный
Раствор лимонной кислоты 10%
Раствор соляной кислоты 0,1 н.
Раствор соляной кислоты 1,0 н.
Растворы соляной кислоты готовят из концентрированной соляной кислоты с маркой чда.
Силикагель с гипсом (ЛС 5/40 μ).
Раствор аммиака 25%.

3. Стандартный раствор тетрациклина

Раствор тетрациклина-гидрохлорида готовят из расчета 100 мкг в 1 мл 0,1 н раствора соляной кислоты.

4. Ход определения

4.1. Приготовление пластин с силикагелем. 3,75 г силикагеля с гипсом смешивают в ступке с 10,5 мл дистиллированной воды и быстро наносят на чистую обезжиренную пластину размером 9 × 18 см и помещают на горизонтальную плоскость, выверенную по уровню. Пластины оставляют на ночь до полного высушивания, затем их активируют один час при 120° С. После охлаждения на пластины наносят экстракт из тканей и стандартный раствор антибиотиков в разных разведениях (от 0,1 до 3 мкг/0,1 мкл).

5. Экстракция тетрациклина из тканей

0,5 г образца свежей или замороженной ткани помещают на пресс, продавливают, гомогенизируют в механической мешалке, взвешивают по 100 мг и погружают в центрифужную пробирку, куда предварительно добавляют 1,9 мл 0,1 н раствора соляной кислоты. Пробирку помещают в холодильник на один час с периодическим встряхиванием. После этого смесь центрифугируют при 1500 об/мин в течение 30 минут. Экстракт выпаривают на часовом стекле при 37° С. Сухой остаток растворяют в 0,5 мл 0,1 н раствора соляной кислоты. На пластину для хроматографии наносят 0,02 мл. После просушивания нанесенных пятен на воздухе пластины помещают в сосуд с системой Н-бутанол-метанол-10% раствор лимонной кислоты (4:2:4) на 2,5 часа. Затем пластины высушивают на воздухе, опрыскивают из пульверизатора 1 н раствором соляной кислоты, прогревают при температуре 50° С одну минуту и помещают в камеру, насыщенную парами аммиака на пять минут, после чего пластины просматривают в ультрафиолете. Тетрациклины флуоресцируют лимонно-желтым цветом.

Необходимым условием при определении антибиотиков методом тонкослойной хроматографии является проведение всех операций в темноте (особенно разгонка в системе, высушивание и выдерживание в парах аммиака).

Чувствительность метода 0,1—0,2 мкг/г ткани.

Определение антибиотиков тетрациклинового ряда флуориметрическим методом (количественный анализ)

В основу положен метод Kohn, принцип которого заключается в образовании комплекса из тетрациклинов и барбитурата кальция, флуоресцирующего в ультрафиолете.

1. Оборудование

Флюориметр типа ФМ-1
Пресс для приготовления кашицы из тканей (диаметр пор 1 мм)
Механическая мешалка с тефлоновым пестиком
Центрифуга типа ЦЛР-1
Пробирки со шлифом на 20 мл
Пипетки разные (от 0,1 мл до 10 мл).

2. Реактивы

Раствор соляной кислоты 0,1 н (готовится из концентрированной соляной кислоты марки чда).
Раствор натрия-барбитала 0,9 М
Хлористый кальций 0,1 М и 0,04 М (готовится из безводного)
Этил-ацетат (перегнанный)
Этилендиаминотетраацетат натрия (ЭДТА — натрия) 0,9 М
Трихлоруксусная кислота 0,44 н
Раствор однозамещенного фосфата калия (KH_2PO_4) 0,004 М в трихлоруксусной кислоте 1,5 н
Раствор нитрата свинца $Pb(NO_3)_2$ в 0,06 н растворе натрия ацетата 2,0 М
Раствор иодноватистокислого калия (KIO_3) 0,32 М.

3. Стандарт

Раствор тетрациклина-гидрохлорида готовится из расчета 100 мкг в 0,1 н растворе соляной кислоты (1 мл — 100 мкг; 0,1 мл — 10 мкг; 0,01 мл — 1 мкг).

4. Ход определения

0,5 г образца свежей или замороженной ткани помещают на пресс, продавливают, гомогенизируют в механической мешалке, взвешивают по 100 мг и погружают в пробирку со шлифом, куда

предварительно добавляют 1,9 мл 0,1 н раствора соляной кислоты. Пробирку помещают в холодильник на один час с периодическим встряхиванием. После этого центрифугируют при 1500 об/мин в течение 30 минут. Надосадочную жидкость сливают в центрифужную пробирку объемом 10 мл и добавляют 1 мл смеси 0,004 М раствора однозамещенного фосфата калия в 1,5 н растворе трихлоруксусной кислоты для осаждения белка. Затем центрифугируют 30 минут при 1500 об/мин.

К надосадочной жидкости добавляют 2,0 мл 0,06 н раствор нитрата свинца в 2,0 М растворе натрия-ацетата (для осаждения солей фосфора).

Образцы оставляют стоять 30 минут при комнатной температуре до полного осаждения, затем центрифугируют.

К надосадочной жидкости добавляют 1,0 мл 0,32 М раствора иодноватистокислого калия (для осаждения избытка свинца) и оставляют стоять на 30—60 минут, затем центрифугируют.

Надосадочную жидкость сливают в пробирку со шлифом, содержащую 3,0 мл этил-ацетат 0,9 М ЭДТА — натрия; 3,0 мл 0,9 М натрия-барбитала; 3,0 мл 0,1 М раствора хлористого кальция. Пробирки энергично встряхивают в течение двух минут и оставляют для расслоения (барбитал вначале выпадает в осадок, затем растворяется в фазе этил-ацетата). Измеряют флюоресценцию верхнего слоя.

5. Расчет

Для расчета содержания тетрациклина в опытных образцах первоначально устанавливают показатель флюориметра на отметку 100, используя стандартный раствор тетрациклина.

Для этого берут 0,1 мл стандартного раствора, содержащего 10 мкг тетрациклина, в пробирку со шлифом и доводят до объема 2,5 мл дистиллированной водой. Затем в эту пробирку добавляют последовательно: 2,0 мл 0,44 н раствора трихлоруксусной кислоты; 2,0 мл 0,44 М раствора хлористого кальция; 3,0 мл этил-ацетата и 3,0 мл 0,9 М натрия-барбитала.

Расчет производят следующим образом:

$$X = \frac{A \cdot B}{C} \cdot 10 \text{ мкг/г ткани, где:}$$

A — количество тетрациклина стандартного раствора;
B — показание прибора опытной пробирки;
C — показание прибора стандартного раствора;
10 — коэффициент для расчета количества тетрациклина в 1 г ткани.

Чувствительность метода: 0,1—0,2 мкг/100 мг ткани.

СОДЕРЖАНИЕ

I МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИКОТОКСИНОВ 1

1. Методика определения афлатоксинов в пищевых продуктах методом ТСХ . . . 3
2. Методика определения афлатоксинов в пищевых продуктах с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии . . . 11
3. Методика определения афлатоксинов в продуктах животного происхождения . . . 19
4. Методика определения содержания патулина в фруктовых и овощных соках и пюре . . . 26
5. Методика определения микотоксина патулина в продуктах переработки плодов и овощей . . . 31
6. Методика определения зараленона в пищевых продуктах . . . 37
7. Методика определения дезоксиниваленола (вомитоксина) в зерне и зернопродуктах . . . 41
8. Методика определения дезоксиниваленола и зеараленона в зерне и зернопродуктах . . . 45
9. Методика определения Т-2 токсина в пищевых продуктах и продовольственном сырье . . . 53
10. Методика определения охратоксина А в пищевых продуктах . . . 57
11. Методики определения микотоксинов: Т-2 токсина, зеараленона (Ф-2) и охратоксина А . . . 63

II. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУЖЕРОДНЫХ ВЕЩЕСТВ 77

12. Атомно-абсорбционные методы определения токсичных элементов в пищевых продуктах и пищевом сырье . . . 77
13. Методика определения метил-этилмеркурхлорида в пищевых продуктах, кулинарно обработанных . . . 93
14. Методика определения содержания общей ртути в пищевых продуктах методом беспламенной атомной абсорбции . . . 97
15. Методика по определению хрома в овощных консервах . . . 103
16. Методика определения содержания гистамина в рыбопродуктах (флуорометрический метод) . . . 105
17. Метод выделения, идентификации и количественного определения гистамина в рыбопродуктах (колориметрический метод) . . . 110
18. Методика определения нитратов и нитритов в молоке и молочных продуктах . . . 114
19. Методика определения нитратов и нитритов в плодовоощной консервированной продукции . . . 124

III. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ СТИМУЛЯТОРОВ РОСТА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ 133

20. Методика определения остаточных количеств Диэтилстильбэстрола в продуктах животноводства и в биологических жидкостях . . . 133
21. Методика определения остаточных количеств Эстрадиола-17β в продуктах животноводства . . . 138
22. Методика определения антибиотиков тетрациклинового ряда методом тонкослойной хроматографии (качественный анализ) . . . 142
23. Методика определения антибиотиков тетрациклинового ряда флуориметрическим методом (количественный анализ) . . . 143
24. Определение летучих N-нитрозаминов в продовольственном сырье и пищевых продуктах . . . 146

Составители: Брагина И. В., Орехова Н. А. — специалисты лаборатории физико-химических методов исследований Российского Республиканского информационно-аналитического центра.
Под редакцией: Подуновой Л. Г. — заместителя Главного государственного санитарного врача РФ, заслуженного врача РФ.

Подписано к печати. 21.11.94.
Формат 60 × 88/16. Бумага офсетная. Усл. печ. л. 9,8. Усл. кр.-отт. 9,8.
Тираж 1000 экз. Зак. 220.

Изготовлено в Московской типографии № 11 Комитета по печати РФ.
113105, Москва, ул. Нагатинская, 1.

gost.e-ecolog.ru